芋焼酎に検出されたローズオキサイドの生成機構

高峯和則¹・吉崎由美子¹・島田翔吾²・高屋総一郎¹・玉置尚徳¹・伊藤 清¹・鯨島吉廣^{1*}
(¹ 鹿児島大学農学部焼酎学講座, ² 薩摩酒造(株))

平成 22 年 7 月 2 日受理

Estimation of the mechanism for *cis* and *trans* rose oxides formation in sweet potato *shochu*.

Kazunori TAKAMINE¹, Yumiko YOSHIKAZI¹, Shogo SHIMADA², Soichiro TAKAYA¹,
Hisanori TAMAKI¹, Kiyoshi ITO¹ and Yoshihiro SAMESHIMA^{1*}

(¹ Course in Shochu Science and Technology, Faculty of Agriculture, Kagoshima University,
1-21-24, Korimoto, Kagoshima, 890-0065

² Satsuma Shuzo Co., Ltd. Makurazaki, Kagoshima, 898-0025)

Cis and *trans* rose oxides (rose oxide) detected in sweet potato *shochu* were 0.8 ~ 4.6 μ g/L and 0.3 ~ 1.9 μ g/L, respectively. The aroma threshold value of rose oxide in a 25% ethanol solution and sweet potato *shochu* was 0.35 μ g/L and 14 μ g/L, respectively. The aroma of rose oxide was evaluated as a sweet, floral, and rose-like flavor. Rose oxide was not included in a first moromi-mash and a sweet potato. Linalool, nerol, geraniol, and α -terpineol were not converted to rose oxide though citronellol was in the model moromi (pH4.2, 15% alcohol) incubated for five days at 30°C. The distillation process and the pH 3.5 or less in the model moromi promoted conversion from citronellol to rose oxide. It was found that koji mold and *Saccharomyces cerevisiae* were not able to convert citronellol to rose oxide. The bioconversion of citronellol from geraniol was not koji mold but *S. cerevisiae*. Our results indicated that citronellol bioconverted from geraniol by *S. cerevisiae* during the fermentation process was further converted to rose oxide by an acid-catalyzed reaction. Also, we confirmed that this chemical conversion was promoted by distillation.

Key words : ローズオキサイド, シトロネロール, 芋焼酎, 酸触媒反応, 化学的変換

緒 言

蒸留酒類に分類される焼酎には、連続式蒸留焼酎と単式蒸留焼酎がある。前者はもろみに含まれるエチルアルコール以外の揮発成分を除去できる連続式蒸留機を使用するため、原料の風味が皆無である。しかし、後者は単式蒸留機を用いるために、もろみの揮発成分が含まれており主原料であるサツマイモ、黒糖、大麦、米といった原料の特徴的風味を有する焼酎となる。特に芋焼酎は独特の風味がありそれに寄与する成分とし

てこれまでに、モノテルペンアルコール類や β -ダマセノン、ローズオキサイドなどが報告されている¹⁻⁴⁾。

芋焼酎製造におけるモノテルペンアルコール類の生成機構は、サツマイモに含まれるネリル配糖体およびゲラニル配糖体から二次もろみの発酵中に麹菌の生産する β -グルコシダーゼの作用によってネロールおよびゲラニオールを遊離し、その一部が酵母によりシトロネロールに、また、蒸留によりリナロールと α -テルピネオールに変換されると報告されている²⁾。 β -ダマセノンは芋焼酎の甘い香りに大きく寄与すること

本論文については、*印著者あて連絡ください。

やその閾値が $5\mu\text{g/L}$ であることが報告されている⁴⁾。しかし、ローズオキシサイドは芋焼酎への香気寄与度や閾値、生成機構は全く明らかにされていない。

ローズオキシサイドは天然植物からシス体およびトランス体が見出され、いずれも旋光度は(−)である⁵⁾。バラやゼラニウム精油の微量成分であり、香り立ちのよいグリーン様香気を有しフレグランス香料のトップノートとして使用される^{5b)}。また、ワインの重要な香気成分としても見出されている⁷⁾。ローズオキシサイドはシトロネロールを前駆体として酸触媒による化学的変換作用⁸⁾および微生物的変換作用や加熱処理により生成する⁹⁾と報告されている。このことから、芋焼酎に含まれるローズオキシサイドはシトロネロールがもろみ中のクエン酸による化学的変換作用や、麹菌や酵母による微生物的変換作用によって生成し、また、蒸留過程で加熱による化学的変換作用が促進されることが推察される。

そこで、本報ではローズオキシサイドの生成機構を明らかにすることを目的として、モデルもろみを用いローズオキシサイドの生成に及ぼすモノテルペンアルコール類、もろみ pH、麹、酵母および蒸留の影響について検討した。

実験方法

1. 使用菌株

鹿児島県内の焼酎会社で一般的に使われている鹿児島 2 号 (K2)、鹿児島 4 号 (C4) および鹿児島 5 号 (H5)¹⁰⁾と清酒協会 7 号 (協会 7 号) を使用した。

2. 培地および前培養

YM 液体培地はペプトン 0.5%、酵母エキス 0.3%、麦芽エキス 0.3% およびグルコース 1% になるように蒸留水または 25mM クエン酸緩衝液 (pH4.2) を用いて調製した。前培養は蒸留水で調製した YM 液体培地 5ml に斜面培地から酵母を白金耳植菌し、30℃ で 48 時間静置培養した。

3. モデルもろみ

モノテルペンアルコールが 1mg/L およびエタノールが 15% になるように 25mM クエン酸緩衝液で調製した。なお、モノテルペンアルコールはリナロール、 α -テルピネオール、シトロネロール、ネロールおよびゲラニオールを用いた。また、エタノールおよびクエン酸緩衝液の濃度は、芋焼酎の蒸留前の二次もろみ

の一般的なアルコール濃度と酸度を参考にした。

4. 麹抽出液の調製および麹の影響

米麹 300g に蒸留水 300ml を加え冷蔵庫内で 18 時間麹成分の抽出を行った。45,000 × g で 20 分間遠心分離し、得られた上澄み液に 10N の水酸化ナトリウム溶液を加え pH4.2 に調整し、その一部は沸騰浴中に 5 分間加熱処理した。全ての溶液は 0.2 μm の滅菌フィルターでろ過した後、乾熱滅菌した共栓付き試験管に 5ml ずつ分注した。この操作で得られた溶液を麹抽出液とした。

麹の影響は麹抽出液にモノテルペンアルコールが 1mg/L およびエタノールが 15% になるように添加し、30℃ で 5 日間保温し GC-MS で分析した。なお、モノテルペンアルコールはゲラニオール、ネロールおよびシトロネロールを用いた。

5. 酵母の影響

25mM クエン酸緩衝液 (pH4.2) で調製した YM 液体培地 30ml を 50ml 容試験瓶に加えシリコ栓を施しオートクレーブ滅菌し、冷却後、エタノールが 2% になるように添加した。この溶液にゲラニオール、ネロールまたはシトロネロールが 1mg/L になるように添加しよく攪拌した後、前培養液 300 μl を添加した。30℃ で 3 日間培養後、3,000 × g で 10 分間遠心分離した上澄み液を GC-MS 分析した。なお、モノテルペンアルコールは水への溶解度が非常に低いため、YM 液体培地にエタノールを 2% になるように添加した。この濃度は酵母が増殖阻害を受けにくい濃度である¹¹⁾。また、1mg/L のモノテルペンアルコールは 2% アルコール溶液では白濁しないことを確認した。

6. 蒸留

蒸留は(有)塚本鑛吉商店製の試験蒸留機を用いて、モデルもろみ 150ml を直接加熱して蒸留し、留液が 120ml まで蒸留した。留液に 250mM クエン酸緩衝液 (pH4.2) 15ml を加え蒸留水で 150ml に定容後、GC-MS 分析した。

7. GC-MS 分析

GC-MS 分析は以下のとおり行った。すなわち、試料 10ml を専用バイアルに入れてポリジメチルシロキサン樹脂をコーティングした攪拌子 (GERSTEL (株) 社製 Twister) を室温で 1 時間攪拌 (1,500rpm) することで、攪拌子の樹脂に揮発成分を吸着させた。攪拌子を取り出し、蒸留水にて洗浄後、余分な水分をキム

Table 1 Condition for gas chromatography-mass spectrometry to analyze general aroma compounds.

GC	Agilent 5975B inert
Column	DB-WAX 0.25mm × 60m, Film0.25 μm
Carrier gas	Helium, 1mL/min (constant flow)
Oven	50°C (hold for 5min.) to 230°C at 3°C /min (hold 10min)
Injection	240°C, Splitless
MSD	Agilent 5973
Ion source temperature	250°C
Ionization method	Electron Ionization
Mass range	Total Ion Monitor:m/z 29 ~ 425
TDS	GERSTEL TDS3 Thermal Desorption System
TDS temperature	20°C (hold for 1min) to 260°C at 60°C /min (hold for 1min)
TDS transfer temperature	280°C
CIS temperature	- 150°C (hold for 2min) to 270°C at 12°C /min (hold for 2 min)
Injection mode	Splitless

ワイプで取り除いた。この攪拌子を TDS 加熱脱着装置 (GERSTEL TDS3; GERSTEL(株)) に設置し GC-MS で分析した。TDS 加熱脱着装置および GC-MS の分析条件の詳細を表 1 に示す。

成分の同定は、Agilent ChemStation ソフトウェアと NIST05a マススペクトルライブラリーおよび AromaOffice (西川計測(株)) で算出したリテンションインデックス (R.I.) から行った。定量に使用したイオンはシトロネロール、ネロールおよびゲラニオールは $m/z = 69$ 、リナロールは $m/z = 93$ 、 α -テルピネオールは $m/z = 59$ およびローズオキシサイドは $m/z = 139$ であり、それぞれの定量用イオンの面積から絶対検量線法を用いて定量した。なお、標準物質は分析する試料と同じアルコール濃度溶液および緩衝液に溶解させて検量線を作製した。

8. 閾値

ローズオキシサイドの閾値を求めるために、25%エタノール溶液および市販の芋焼酎にローズオキシサイドを添加した試料を用いて、ビール酒造組合国際技術委員会が纏めた BCOJ 官能評価法の三点識別法¹²⁾で行なった。なお、パネリストは焼酎の鑑評会の審査員や焼酎製造熟練技術者 15 名で行った。

実験結果と考察

1. ローズオキシサイドの閾値

ローズオキシサイドの閾値は 25%エタノール溶液を用いた場合、 $0.35 \mu\text{g/L}$ であった。Guth⁷⁾は 10%エタノール水溶液におけるローズオキシサイドの閾値は 0.2

$\mu\text{g/L}$ であり、ワインには $3.0 \mu\text{g/L}$ 含まれることから香気寄与度 (OAV; odor activity value) が 15 であり、この値からローズオキシサイドがワインにおいて非常に高い香気寄与度を持つ成分であると報告している。なお、OAV は次式から求まり、この値が高い香気成分ほど飲料への香気寄与度が高くなる。

OAV = 飲料中の香気成分 X の濃度 / エタノール水溶液中の香気成分 X の閾値濃度

芋焼酎には表 2 に示すようにシス体およびトランス体ローズオキシサイドの合計量が $1.1 \sim 6.5 \mu\text{g/L}$ 含まれていた。特に A 社の黄麹製焼酎以外は OAV が $12.6 \sim 18.6$ の値となり、ローズオキシサイドが芋焼酎に及ぼす香気寄与度はワインと遜色ないことがわかった。

一方、A 社白麹製芋焼酎を用いた場合、ローズオキシサイドを $9.35 \mu\text{g/L}$ 添加することで識別が可能であった。芋焼酎に含まれるローズオキシサイドは $4.4 \mu\text{g/L}$ であったことから、閾値は約 $14 \mu\text{g/L}$ と算出した。芋焼酎は様々な揮発成分の相互作用によって香りが形成されているため、25%エタノール溶液では $0.35 \mu\text{g/L}$ で識別できたが、芋焼酎ではローズオキシサイドの特徴香がマスクされてしまい、閾値が 25% エタノール溶液と比べ 40 倍高い値となったといえる。しかし、OAV は $12.6 \sim 18.6$ とワインの値と遜色ないことから、芋焼酎の香気に明らかに寄与していると考えられる。

閾値における官能評価は、25% エタノール溶液では「甘い」や「華やか」、「バラ様」、「柑橘」と評価された。芋焼酎では「甘い」、「華やか」、「バラ様」と評

Table 2 Comparison of characteristic aromas of sweet potato *shochu*. ($\mu\text{g/L}$)

Compound	A Company			B Company			C Company		
	White ^{*1}	Black ^{*2}	Yellow ^{*3}	White ^{*1}	Black ^{*2}	Yellow ^{*3}	White ^{*1}	Black ^{*2}	Yellow ^{*3}
Linalool	71	72	17	67	93	74	70	69	45
α -Terpineol	53	60	10	56	80	89	66	47	34
Citronellol	132	157	67	105	147	125	80	98	130
Nerol	29	45	11	36	78	71	39	33	39
<i>cis</i> -Rose oxide	3.1	4.6	0.8	3.2	3.4	3.3	3.7	3.6	3.7
<i>trans</i> -Rose oxide	1.3	1.9	0.3	1.5	2.0	1.5	0.7	1.2	1.5

The sweet potato *shochu* was made using white koji (* 1), black koji (* 2) and yellow koji (* 3).

価された。しかし濃度が高くなると「強い香水様」, 「芋傷み」, 「バラの香りが強すぎる」と指摘された。

2. 芋焼酎特有の微量香気成分

市販の芋焼酎に含まれるモノテルペンアルコールおよびローズオキシサイド濃度を分析した結果を表2に示す。白麹製と比べて黒麹製がモノテルペンアルコールの生成量は高くなる傾向にあり, 神渡ら¹³⁾の報告と一致した。A社の焼酎ではモノテルペンアルコール類は黄麹製焼酎が白麹製と比べて1/4以下であった。しかし, B社およびC社の黄麹製焼酎は白麹製と比べて高い傾向であった。モノテルペンアルコールはサツマイモに含まれるモノテルペン配糖体が麹菌の生産する β -グルコシダーゼの作用を受けることでモノテルペンアルコールとなる²⁾。黒麹菌の β -グルコシダーゼ活性は白麹菌と比べて2.7倍高く²⁾, このことが焼酎に含まれるモノテルペンアルコール濃度に影響を与えるとされている。また, 黄麹菌の β -グルコシダーゼ活性は黒麹菌と比べて1/10以下²⁾であることから, 黄麹を使ったもろみではモノテルペンアルコール類の生成は僅かであると考えられる。しかし, B社およびC社の黄麹製焼酎は黒麹製と比べて同量以上であった。

ローズオキシサイドは2種類検出され, 保持時間が23.34分のピークはR.I. = 1354でシス体, 24.02分のピークはR.I. = 1369でトランス体と同定され, 芋焼酎にはシス体が多く含まれていた。A社の黄麹製焼酎ではローズオキシサイドが $1.1\mu\text{g/L}$ と分析した焼酎の中で最も低い濃度であった。この焼酎はモノテルペンアルコールの濃度も最も低い値であった。一方, B社およびC社の黄麹製焼酎には, ローズオキシサイドがそれぞれ4.8および $5.2\mu\text{g/L}$ 含まれており, 黒麹や白麹製の焼酎と遜色ない値であった。

A社, B社およびC社のモノテルペンアルコール合計濃度とローズオキシサイド濃度との相関係数は, それぞれ0.965, 0.645および-0.562であった。一方, シトロネロール濃度とローズオキシサイド濃度の相関係数は0.987, 0.861および0.951と高い相関関係を示した。ローズオキシサイドはシトロネロールが酸性化で酸触媒により環化反応が起き生成すると報告されており⁸⁾, 芋焼酎製造においてもローズオキシサイドの生成にはシトロネロールの関与が強く示唆された。なお, 本分析法においてゲラニオールは同時時間帯に溶出するラウリン酸エチルが高濃度に存在するため, 定量することが不可能であった。

3. ローズオキシサイドの生成機構

シトロネロールとローズオキシサイドの構造式は図1のとおりである。

一次もろみおよびサツマイモをGC-MSで分析した結果, ローズオキシサイドは検出されなかった。このことから, ローズオキシサイドは二次もろみの発酵過程および蒸留工程で生成すると推察された。そこで, 以下の実験から芋焼酎製造におけるローズオキシサイドの生成機構を明らかにした。なお, 一次もろみは $3,000\times\text{g}$ で10分間遠心分離した上澄み液を分析に供した。また, サツマイモは蒸煮後2倍重量の蒸留水を加えホモジナイズしGC-MS分析した。

(1) モノテルペンアルコールからローズオキシサイドの生成および蒸留の影響

芋焼酎に検出されるネロール, ゲラニオール, α -テルピネオール, リナロールまたはシトロネロールを用いて25mMクエン酸緩衝液(pH4.2)で調製したモデルもろみ200mlを30℃で5日間保温した。このモデルもろみ150mlを用いて蒸留した。蒸留前後の溶液10mlに攪拌子を入れ揮発成分を吸着後, GC-MS

Figure 1 Structural formulae of citronellol, *cis*-rose oxide, and *trans*-rose oxide.

で分析した。その結果、表3に示すように蒸留前のネロール、ゲラニオール、 α -テルピネオールまたはリナロールを添加したモデルもろみからはローズオキシサイドは検出されなかった。一方、シトロネロールを添加したモデルもろみではシス体およびトランス体ローズオキシサイドがそれぞれ2.0および1.0 $\mu\text{g/L}$ 検出された。このことから、今回使用したモノテルペンアルコールのなかではシトロネロールのみがローズオキシサイドの前駆体となることが確認できた。

シトロネロールを添加したモデルもろみは、蒸留することで蒸留前と比べてローズオキシサイド濃度が約2.5倍に増加した。ネロール、リナロール、 α -テルピネオールを添加したモデルもろみでは蒸留

してもローズオキシサイドの生成は認められなかった。Demyttenaere, etc⁹⁾はシトロネロールを含む培地を加熱処理することでローズオキシサイドへの変換が促進すると報告しているが、本研究の結果はこのことと一致した。

(2) シトロネロールからローズオキシサイドへの変換に及ぼす pH の影響

pH2.5, 3.0, 3.5, 4.0, 5.0 および 7.0 に調整した 25mM クエン酸緩衝液に、シトロネロールを 1mg/L になるように添加してモデルもろみを調製し、30℃で5日間保温後、GC-MS 分析した。なお、いずれの溶液においても5日間の保温では pH の変化は認められなかった。図2に示すように、モデルもろみの pH の

Table 3 Rose oxides formation from monoterpene alcohols.

Before distillation* ¹					
Compound	Citronellol	Geraniol	Nerol	α -Terpineol	Linalool
Linalool	n.d.	7	6	n.d.	985
α -Terpineol	n.d.	n.d.	2	958	n.d.
Citronellol	1029	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
Nerol	5	8	1040	n.d.	n.d.
Geraniol	5	1058	6	n.d.	n.d.
<i>cis</i> -Rose oxide	2.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>trans</i> -Rose oxide	1.0	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
After distillation* ²					
Compound	Citronellol	Geraniol	Nerol	α -Terpineol	Linalool
Linalool	n.d.	15	11	n.d.	952
α -Terpineol	n.d.	n.d.	3	980	1
Citronellol	922	4	3	n.d.	4
Nerol	9	12	915	n.d.	n.d.
Geraniol	132	969	107	128	110
<i>cis</i> -Rose oxide	4.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
<i>trans</i> -Rose oxide	2.5	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

1mg/L of citronellol, geraniol, nerol, α -terpineol or linalool was converted in a model moromi (*1) (pH4.2, 15% alcohol) for five days at 30℃ and then the model moromi was distilled (*2).
n.d.: Not detected

Figure 2 Effect of pH on chemical conversion to *cis*- and *trans*-rose oxides from citronellol.

Symbols: □, *cis*-Rose oxide; ■, *trans*-Rose oxide.

One mg/L of citronellol was converted into the rose oxide in the model moromi (pH4.2, 15% alcohol) incubated for five days at 30°C.

値が低下するとシス体ローズオキシサイドの生成量は増加し、特に pH3.5 以下で顕著に増加した。トランス体ローズオキシサイドは pH3.5 で最大の生成量となり、pH4 以上ではシス体同様に生成量が急激に減少した。Demyttenaere, etc⁹⁾ はシトロネロールを含む寒天培地において pH7.3 の培地ではローズオキシサイドは生成しないが、pH5 と pH3.5 の培地ではローズオキシサイドが生成し、pH3.5 の培地が pH5 と比べて約 2.5 倍増加し、これは酸触媒反応による化学的変換であると説明しているが、このことと一致したことから、もろみの pH を制御することでローズオキシサイドの生成量を変化させることができることが示唆された。

(3) シトロネロールおよびローズオキシサイドへの変換に及ぼす麹の影響

太田²⁾は、ネロールおよびゲラニオールからシトロネロールが酵母により生成すると報告している。一方、Demyttenaere, etc⁹⁾ は *Aspergillus* 属 と *Penicillium* 属によるシトロネロールからのローズオキシサイドへの微生物的変換作用について報告している。そこで、ゲラニオール、ネロールまたはシトロネロールを 1mg/L になるように麹抽出液に添加し 30°C で 5 日間保温し、GC-MS 分析した。その結果、ゲラニオールおよびネロールはシトロネロールへの変換は認められなかった。また、シトロネロールからローズオキシサイドへの変換は麹抽出液の加熱処理の有無にかかわらずシス

体およびトランス体のローズオキシサイドがいずれもそれぞれ 2.5 μg/L および 1.0 μg/L 検出された。Luan, etc¹⁴⁾ はブドウ果皮の還元酵素によりゲラニオールからシトロネロールへと変換することについて報告している。また、Demyttenaere, etc⁹⁾ はシトロネロールを含む寒天培地に *Aspergillus* 属 と *Penicillium* 属を培養するとローズオキシサイドが生成すると報告している。しかし、焼酎製造において麹はネロールとゲラニオールからシトロネロールへの還元作用とシトロネロールからローズオキシサイドの変換には関与しないことが明らかになった。

(4) ローズオキシサイドおよびシトロネロールへの変換に及ぼす酵母の影響

ネロール、ゲラニオールまたはシトロネロールが 1mg/L になるように YM 液体培地に添加して、酵母前培養液 300 μl 加え 30°C で 3 日間培養した。なお、対照として酵母前培養液を添加しない培地を同条件で培養した。培養液を遠心分離して得られた上澄み液を用いて GC-MS 分析した。その結果、表 4 に示すようにシトロネロールを含む YM 液体培地では、前培養液の添加の有無にかかわらずシス体およびトランス体ローズオキシサイドがそれぞれ 1.3 および 0.5 μg/L 検出された。このことから、YM 液体培地に検出されたローズオキシサイドは酵母による微生物的変換作用ではなく酸触媒による化学的変換であるといえる。

Table 4 Bioconversions to citronellol from nerol and geraniol, and to rose oxides from citronellol by *Saccharomyces cerevisiae* Kagoshima 2-strain for shochu. ($\mu\text{g/L}$)

Compound	Citronellol		Nerol		Geraniol	
	Yeast	Without yeast	Yeast	Without yeast	Yeast	Without yeast
Citronellol	487	727	9	n.d.	83	n.d.
Nerol	2	2	443	950	29	8
Geraniol	0	2	6	n.d.	586	1019
<i>cis</i> -Rose oxide	1.3	1.3	n.d.	n.d.	0.1	n.d.
<i>trans</i> -Rose oxide	0.5	0.5	n.d.	n.d.	trace	n.d.

1mg/L of citronellol, nerol, or geraniol was incubated with or without yeast in YM medium (25mM citrate buffer, pH4.2) for 3 days at 30°C.

n.d.: Not detected

trace: <0.1 $\mu\text{g/L}$

Table 5 Effect of various *Saccharomyces cerevisiae* on bioconversion into citronellol and rose oxides from geraniol. ($\mu\text{g/L}$)

Compound	K2* ¹	C4* ²	H5* ³	Kyokai 7* ⁴	Without yeast
Citronellol	83	150	162	248	n.d.
Nerol	29	23	28	33	8
Geraniol	586	507	628	543	1019
<i>cis</i> -Rose oxide	0.1	0.1	0.1	0.2	n.d.
<i>trans</i> -Rose oxide	trace	trace	trace	0.1	n.d.

1mg/L of geraniol was incubated with and without yeast in a YM medium (25mM citrate buffer, pH4.2) for 3 days at 30°C. The yeast used in this study was shochu yeast such as Kagoshima 2-strain (* 1), Kagoshima 4-strain (* 2) and Kagoshima 5-strain (* 3), and Kyokai 7-strain (* 4) for sake.

n.d.: Not detected

trace: <0.1 $\mu\text{g/L}$

Koslitz, etc.¹⁵⁾は、ゲラニオールまたはシトロネロールを添加したモデルもろみにおいて酵母はローズオキシサイドを生成しないと報告しているが、このことと一致した。

ゲラニオールを含む YM 液体培地ではシトロネロールが 83 $\mu\text{g/L}$ およびローズオキシサイドが痕跡程度ではあるが検出された。しかし、前培養液を添加しないとシトロネロールおよびローズオキシサイドは検出されなかった。ネロールを含む YM 液体培地ではシトロネロールが 9 $\mu\text{g/L}$ 検出されたが、ローズオキシサイドは検出されなかった。太田²⁾は酵母によるシトロネロールへの変換効率ネロールと比べてゲラニオールが約 10 倍高いことを報告しているが、本研究においても同様の結果が得られた。

焼酎酵母の K2, C4 および H5 と清酒酵母の協会 7 号を用いてゲラニオールからシトロネロールへの変換

効率の違いを確認した。その結果、表 5 に示すようにシトロネロール濃度は K2 を培養した YM 液体培地が 83 $\mu\text{g/L}$ と最も低く、協会 7 号が 248 $\mu\text{g/L}$ と K2 と比べて約 3 倍多く生成した。なお、酵母総菌数には大差はなかった。Luan, etc.¹⁴⁾はブドウ果皮の還元酵素によりゲラニオールがシトロネロールへと変換すると報告している。このことから、本研究において培養液に検出されたシトロネロールは酵母の還元酵素が関与しているものと推察される。シス体ローズオキシサイドが協会 7 号では 0.2 $\mu\text{g/L}$ 、それ以外は 0.1 $\mu\text{g/L}$ 検出されたが、これは酵母による微生物的変換作用というよりもゲラニオールから変換して生成したシトロネロールが酸触媒反応による化学的変換で生成したものといえる。

要 約

芋焼酎の中にローズオキシサイドはシス体およびトランス体が検出され、それぞれ $0.8 \sim 4.6 \mu\text{g/L}$ および $0.3 \sim 1.9 \mu\text{g/L}$ であった。ローズオキシサイドの閾値は25%アルコールでは $0.35 \mu\text{g/L}$ 、芋焼酎では $14 \mu\text{g/L}$ であった。閾値での評価は「甘い」、「華やか」、「バラ様」であった。ローズオキシサイドは一次もろみとサツマイモからは検出されなかった。モデルもろみ(pH4.2, アルコール 15%) を 30°C で5日間加温するとシトロネロールからローズオキシサイドへ変換された。しかし、ネロール、ゲラニオール、リナロールおよび α -テルピネオールからは変換されなかった。シトロネロールからローズオキシサイドへの変換は蒸留工程およびモデルもろみを pH3.5 以下にすることで促進された。麹菌と酵母によるシトロネロールからローズオキシサイドへの変換は確認されなかった。シトロネロールはゲラニオールを前駆体として酵母により変換されたが、麹は変換に関与しなかった。

以上のことから、ゲラニオールから酵母の微生物的変換作用により生成したシトロネロールが発酵過程で酸触媒による化学的変換作用によりローズオキシサイドに変換し、蒸留工程で変換が促進されることが明らかになった。

参考文献

- 1) 高峯和則, 鮫島吉廣: 醸協, **103**, 601 ~ 606 (2008)
- 2) 太田剛雄: 醸協, **86**, 250-254 (1991)
- 3) 栗山謙一, 長友正弘, 山中寿城, 吉浜吉雄, 渡辺西造: 醸協, **100**, 817 ~ 823 (2005)
- 4) 神渡巧, 瀬戸口眞治, 上田次郎, 瀬戸口智子, 緒方新一郎: 醸協, **101**, 437 ~ 445 (2006)
- 5) 川崎通昭, 中島基貴, 外池光雄: におい物質の特性と分析・評価, フレグランスジャーナル社, 東京, 57-68 (2003)
- 6) K. Bauer, D. Garbe and H. Surburg (Eds.), Common Fragrance and Flavor Materials: Preparation, Properties and Uses, second, revised ed., VCH, New York, p.218 (1990)
- 7) H. Guth: *J. Agric. Food Chem.*, **45**, 3027-3032 (1997)
- 8) H. Knapp, M. Straubinger, S. Fornari, N. Oka, N. Watanabe and P. Winterhalter: *J. Agric. Food Chem.*, **46**, 1966 (1998)
- 9) J. C.R. Demyttenaere, J. Vanoverschelde and N. D. Kimpel: *J. Chromatography A*, **1027**, 137-146 (2004)
- 10) 高峯和則, 瀬戸口眞治, 亀澤浩幸, 神渡巧, 緒方新一郎, 尾ノ上国昭, 濱崎幸男: 鹿児島県工業技術センター研究報告, **8**, 1-6 (1994)
- 11) 高峯和則, 大山修一, 吉崎由美子, 玉置尚徳, 鮫島吉廣: 醸協, **105**, 546-555 (2010)
- 12) ビール酒造組合 国際技術委員会(分析委員会)編: BCOJ 官能評価法, 9. 添加物質の閾値, (財)日本醸造協会 (2002)
- 13) 神渡巧, 瀬戸口眞治, 緒方新一郎, 間世田春作: 醸協, **98**, 729-736 (2003)
- 14) F. Luan, A. Mosandl, A. Münch and M. Wüst: *PHYTOCHEMISTRY*, **66**, 295-303 (2005)
- 15) S. Koslitz, L. Renaud, M. Kohler and M. Wuest: *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 1371-1375 (2008)